

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerésztudományi Kar
Gyógyszertechnológiai Intézet

Ph.D értekezés tézisei

**A NIFLUMINSAV OLDÉKONYSÁGÁNAK ÉS
OLDÓDÁSI SEBESSÉGÉNEK NÖVELÉSE GYORS
HATÓANYAGFELSZABADULÁS CÉLJÁBÓL**

Ambrus Rita

Témavezető:
dr. Aigner Zoltán

**Szeged
2007**

1. BEVEZETŐ

Terápiás, valamint gazdasági szempontból, számos új és még több régi, generikus hatóanyag esetében van szükség korszerűbb formulálási eljárás alkalmazására. A hatóanyag oldékonyságának és oldódási sebességének növelése számos esetben az alkalmazott dózis csökkentését és a mellékhatások mérséklését eredményezi. A modern gyógyszer technológia célja olyan készítmények formulálása, amelyek hatóanyaga megfelelő helyen és időben maximális hatásossággal rendelkezik.

A vízben lassan és kismértékben oldódó vegyületek oldékonyságának növelése – a fizikai-kémiai tulajdonságok megváltoztatásával – jobb biohasznosíthatóságot eredményez. Ilyen vegyületek esetén a LADMER-rendszer folyamatait tekintve, az oldódás és felszívódás sebessége meghatározó tényező. A gyógyszerformából a kioldódott farmakon képes a további felszívódásra. A gyógyszer technológiai kutatás fontos feladata, a rosszul oldódó vegyületek oldékonyságának növelése. Új hatóanyag hordozó rendszerekkel és technológiai eljárásokkal lehetőség van ennek elérésére.

A hatóanyag fizikai-kémiai sajátosságainak befolyásolása többek között komplex képzéssel történhet. Gyógyszerészi gyakorlatban jelentős eredmény érhető el ciklodextrines (CD) zárványkomplexek előállításával. A zárványkomplexek molekulavegyületek, amelyek szerkezetére jellemző, hogy a „gazdamolekula” belső üregében helyezkednek el a „vendégmolekula” molekulái anélkül, hogy az előbbi szerkezete átalakulna. A zárványkomplexbbe zárt molekulák fizikai-kémiai sajátosságai jelentős mértékben megváltoznak. A vízben alig oldódó vagy nem oldható anyagok vízzoldékonnyá válhatnak. Ezáltal megnövekszik oldhatóságuk és oldódási sebességük. A komplexek fiziológiás körülmények közt könnyebben felszabadulnak és jobban hasznosulnak.

Szilárd diszperziók esetében a hatóanyag eloszlása egy polimer mátrixban, olvadék technológiával, valamint oldószer-eltávolítás módszerével történhet. Az eljárás alkalmazásával a hatóanyag amorfizálása érhető el, amely a szemcseméret csökkenéséhez, a fajlagos felület növekedéséhez vezet, ezáltal az oldékonyság és oldódási sebesség javul.

Az értekezés egy rossz oldékonyságú hatóanyag, nifluminsav (NIF), preformulálásával és az említett eljárások alkalmazásával foglalkozik, az oldékonyság és oldódási sebesség javítása céljából. NIF esetében egyedül *Iervolino* és munkatársai alkalmazták a CD-eket 1:1 arányban, háromféle módszerrel a hatóanyag gyomor toxicitásának csökkentése és biztonságosságának javítása céljából. A disszertáció a hatóanyag egyéb formulálási megoldásait tárgyalja.

2. KÍSÉRLETI CÉLKITŰZÉSEK

Kutatómunkámban az alábbi célok megvalósítását tűztem ki.

A tanulmány első részében *ciklodextrines kettős és hármas rendszerek* előállításával foglalkoztam különböző molekula és tömeg arányokban, három komplexálási módszer alkalmazásával.

A munka második részében *szilárd diszperziókat* készítettem, vákuum és porlasztva szárítás eljárásokkal mint oldószer eltávolító módszerek.

Elvégeztem az előállított termékek fizikai-kémiai sajátságainak, *in vitro* kioldódásának és diffúziójának vizsgálatát, valamint szerkezeti analízisét a következők szerint:

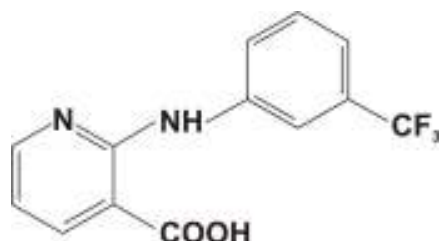
1. a termékek preformulációs vizsgálatai
 - a. nedvesedési peremszögek felvétele
 - b. *n*-oktanol/víz megoszlási hányados meghatározása
 - c. telítési koncentráció vizsgálata az oldékonyság meghatározása céljából
 - d. szemcseméret-analízis
2. *in vitro* vizsgálatok
 - a. a hatóanyag oldékonyságának és oldódási sebességének meghatározása mesterséges közegekben
 - b. membrán diffúzió-vizsgálat
3. szerkezeti értékelés
 - a. *Fourier* transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR), porröntgen diffraktometria (XRPD) és termoanalízis (DSC és termomikroszkópia).

3. ANYAGOK

3.1. Hatóanyag: Nifluminsav(NIF)

NIF: 2-[[3-(trifluoromethyl)phenyl]amino]-3-pyridinecarboxylic acid

Előállító: Richter G. Nyrt., Budapest



1. ábra Nifluminsav szerkezeti képlete

Összegképlet:	$C_{13}H_9F_3N_2O_2$
Molekulatömeg:	282,23
Olvadáspont:	205 °C
Védett név:	Donalgin [®]
Leírás:	sárga, tapadós, finom por

Az antranilsav-származékok csoportjába tartozó nifluminsav jól bevált gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító szer. Alkalmazása elsősorban reumatikus megbetegedésekben, mint rheumatoid arthritis, arthrosis és más gyulladásos betegségek esetén javallt. A Richter Gedeon Nyrt. *Donalgin*[®] kapszulájának hatóanyaga (250 mg/kapszula). Számos mellékhatása ismert hányinger, hányás, hasmenés. Gyomorfekély esetén kizárólag orvosi fegyület mellett használható. A BCS besorolás alapján a II. osztályba tartozik, ami azt jelenti, hogy vízben nem oldódó, lipofil és jó permeabilitású vegyület. Mivel a hatóanyag széleskörben alkalmazott különböző megbetegedések esetén, a biztonság és hatásosság optimalizálása fontos technológiai feladat.

3.2. Segédanyagok

- α -CD, β -CD, γ -CD, hidroxibutenil- β -CD (HBU- β -CD), 2-hidroxipropil- β -CD (HP- β -CD), heptakis-2,6-di-*O*-metil- β -CD (DIMEB) és random metilezett- β -CD (RAMEB) (Cyclolab R&D Laboratory Ltd., Magyarország); Captisol[®] (Cydex, Inc., USA).
- polivinilpirrolidon (PVP): K-90, M_t : 1 300 000 (VII. Magyar Gyógyszerkönyv); C-30 ($M_t \sim 58\,000$), K-25 ($M_t \sim 34\,000$), C-15 ($M_t \sim 8\,000$) (C/o ISP Customer Service GmbH, Németország)
- egyéb anyagok, mint aceton, etanol, metanol analitikai tisztaságúak (Spektrum 3D Ltd., Debrecen).

4. MÓDSZEREK

4.1. Termékek készítése

4.1.1. Ciklodextrines kettős komplexek

A termékeket négy molekula-arányban készítettem (NIF:HP- β -CD = 2:1, 1:1, 1:2 és 1:3). *Fizikai keverékek (PM)*: a molekulatömegek arányában kiszámított mennyiségeket gondosan

porítottam és homogenizáltam. 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam és újból homogenizáltam. Az oldószeres módszer két típusát alkalmaztam (gyúrás és ultrahangozás). *Gyúrt termékek (KP)*: a fizikai keverékeket azonos mennyiségű víz:etanol 1:1 arányú elegyével gyúrtam, majd az oldószert szobahőmérsékleten elpárologtattam. *Ultrahangozott termékek (US)*: fizikai keverékeket 50 %-os etanolban oldottam, majd ultrahangoztam 1 órán át (Grant ultrasonic bath XB2, Anglia), szobahőmérsékleten, majd szárítószekrényben szárítottam, porítottam, 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam és újból homogenizáltam.

4.1.2. Ciklodextrines hármas rendszerek

A terner rendszereket szintén négy molekula-arányban készítettem (NIF:HP-β-CD = 2:1, 1:1, 1:2 és 1:3) minden esetben 15 m/m% PVP K-90 hozzáadásával. *Terner fizikai keverékek (PM+PVP)*: NIF, HP-β-CD és PVP komponenseket mozsárban homogenizáltam és 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam. *Terner gyúrt termékek (KP+PVP)*: a három komponens keverékét azonos mennyiségű víz:etanol 1:1 arányú keverékével gyúrtam, majd az oldószert szobahőmérsékleten elpárologtattam, porítottam, 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam és újból homogenizáltam.

4.1.3. PVP-s szilárd diszperziók

A kétkomponensű rendszerek 4 tömeg-arányban készültek (NIF:PVP = 1:1, 1:2, 1:4 és 1:6). A fizikai keverékek (**PM C-15**, **C-30** és **K-25**) összetevőit mozsárban porítottam, 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam és újból homogenizáltam.

A vákuum-száritással készített termékek (**SP K-25**) PVP K-25 alkalmazásával 1:1, 1:2, 1:4 és 1:6 tömeg-arányokban készültek. 1 g NIF-at 30 ml acetonban oldottam fel és megfelelő mennyiségű PVP K-25-öt adtam hozzá. A polimer szolubilizálása céljából kis mennyiségű metanolt is felhasználtam. Az oldószer egy részét 30 °C-on eltávolítottam, majd 3 órán keresztül vákuumoztam a termékeket. A mintákat porítottam, és 100 µm szita finomságú szitán átszitáltam.

A porlasztva szárított termékeket (**SPD**) Büchi Mini Dryer B-191 (Svájc) készülékkel 165 °C bejövő és 86 °C kimenő hőmérsékleten sűrített levegő alkalmazásával (600 l/min) 0.5 mm átmérőjű porlasztóval állítottam elő, az aspirátor sebesség 80% az adagoló pumpa sebesség 10% volt. Irodalmi adatok alapján a polimer-molekula tömege fontos szerepet játszik a szilárd diszperziók előállításánál, egyes esetekben a kisebb molekula-tömegű, nagyobb arányban alkalmazott PVP-vel jobb eredmény érhető el. A porlasztva szárított

termékek (**SPD C-15**) előállításánál 1:5 és 1:10 tömegarányokban a kisebb molekula-tömegű, PVP C-15-el dolgoztam, az oldószer 30% etanol volt.

A termékeket szobahőmérsékleten (22 °C) zárt üvegben tároltam.

4.2. A termékek fizikai-kémiai jellemzése

NIF és termékek **nedvesedési peremszög vizsgálatát** OCA peremszög meghatározó készülékkel végeztem (Dataphysics OCA 20, Dataphysics Inc., GmbH, Németország) körillesztés módszer alkalmazásával. 0,15 g poranyagot Specac hidraulikus préssel (Specac Inc., USA) 1 tonna erővel pasztillákká préseltem, ezek felületére desztillált vizet cseppentettem, majd detektáltam peremszög értéküket.

A minták **megoszlási hányadosa** (K_p), a két egymással érintkező, de nem elegyedő oldószerben (*n*-oktanol/víz) mért hatóanyag koncentráció hányadosa az egyensúly beállta után.

Szilárd diszperziók **telítési koncentrációját** 25 °C-on határoztam meg. Desztillált vízbe hatóanyagot vagy termékeket tettem, a rendszereket lezártam és naponta kevertettem. Amennyiben feloldódott az anyag, további mennyiséget adagoltam, időnként rázogatva 3 napig állni hagytam. Az így kapott túltelített mintákat szűrés után hígítottam. ATI UNICAM UV-VIS spektrofotométerrel megmértem a minták abszorbanciáját az oldószerrel szemben.

A szilárd diszperziók **szemcseanalízise** LEICA Image Processing and Analysis System készülék alkalmazásával történt (LEICA Q500MC, LEICA Cambridge Ltd., Anglia).

4.3. *In vitro* vizsgálatok

A termékek **kioldódását** a Magyar Gyógyszerkönyvben is hivatalos forgólapátos kioldókészülék módosított változatával határoztam meg. A termékeket 100 ml 37 °C-os mesterséges gyomor- (Gyn) ($\text{pH} = 1,1 \pm 0,1$; 94,00 g 1 M HCl, 0,35 g NaCl, 0,50 g glicin ad 1000 ml desztillált víz) vagy mesterséges bélnedvben (Bn) ($\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$; 14,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 7,1 g KH_2PO_4 ad 1000 ml desztillált víz) vizsgáltam. A készülékeket 100 fordulat/perc fordulatszámmal működtettem. 5, 10, 15, 30, 60, 90 és 120 perc után 5–5 ml mintát vettem, szűrtem, majd –szükséges hígítás– után ATI UNICAM UV-VIS (Unicam UV2/VIS spectrometer, Unicam Ltd., Anglia) spektrofotométerrel abszorbanciát mértem ($\lambda_{\text{Gyn}} = 256 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{Bn}} = 288 \text{ nm}$), amelyből a hatóanyagtartalom meghatározható.

A következő **matematikai modelleket** használtam a kioldódási görbék értékelésénél: *nullad-rendű model*, *első-rendű modell*, *Higuchi modell*, *RRSBW modell*, *Langenbucher*, *Módosított Langenbucher* és $(Bt)^a$ modellek.

Az ***in vitro* diffúziós vizsgálatokat** Stricker's Sartorius (Sartorius-Membranfilter GmbH, Németország) készülékben végeztem 100 ml gyomornedvből 100 ml mesterséges plazmába (PI) ($\text{pH} = 7,5 \pm 0,1$; 20,5 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ és 2,8 g KH_2PO_4 ad 1000 ml desztillált víz), mesterséges membránként cellulóz-acetát membránt alkalmaztam (Schleicher & Schuell ME 29, Dassel, Németország: 3 μm pórusméret, 40 cm^2 diffúziós felület). Meghatároztam a diffúzió sebességi állandó (K_d) értékeket.

4.4. Szerkezeti sajátosságok

LEICA **termomikroszkóp** (LEICA MZ 6, Németország) használatával detektáltam a hőmérséklet-emelkedés hatására bekövetkező morfológiai változásokat.

A **DSC** méréseket Mettler Toledo STAR termoanalitikai készülékkel végeztem (Mettler Toledo DSC 821^e thermal analysis system with STAR^e thermal analysis program V6.0 Mettler Inc., Schwerzenbach, Svájc), argon gáz átáramoltatásával (10 l/óra). A vizsgálatokat 2–5 mg-os mintával 25–300 °C között, 5 °C /perc fűtési sebességgel végeztem.

Az **FT-IR spectrumokat** AVATAR 330 FT-IR készülékkel detektáltam 400-4000 cm^{-1} intervallumban (Thermo Nicolet, USA). A vizsgálatnál 0,5 mg NIF tartalmú 150 mg-os KBr pelletet alkalmaztam.

A mintákban lévő hatóanyag fizikai állapotát **porröntgen diffraktometriával** határoztam meg (Philips PW 1710 diffraktometer).

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

5.1. Ciklodextrines kettős és hármas rendszerek vizsgálatai

Meghatároztam a NIF, HP- β -CD, PVP K-90 és a termékek **nedvesedési peremszögeit** a csepp felvitelt követő 5. másodpercben (a legkisebb szórási érték alapján) (I. táblázat). A hatóanyag hidrofóbítását nagy peremszöge is mutatja.

I. táblázat NIF és termékek peremszögértékei						
	[°]±SD	[°]±SD	[°]±SD	[°]±SD	[°]±SD	[°]±SD
NIF	71,3±3,2					
HP-β-CD	18,5±1,6					
PVP K-90	35,4±7,6	PM	KP	US	PM+PVP	KP+PVP
2:1		30,4±4,5	40,9±0,6	42,3±4,6	30,7±0,7	42,3±6,7
1:1		29,0±1,3	32,6±1,5	34,6±1,2	29,9±0,1	36,6±2,1
1:2		24,8±2,2	25,2±2,3	27,0±2,0	28,7±1,3	30,0±2,0
1:3		26,4±2,2	25,8±1,7	25,4±1,1	35,4±2,5	31,6±1,6

A vizsgált termékek peremszöge minden esetben a hatóanyag és CD peremszöge között található. A különböző termék-előállítási módszerek esetében a HP- β -CD koncentráció növelésével általában a peremszög értékek csökkenését tapasztaltam. A nagyobb CD tartalom jobb eredményt mutatott. Az *n*-oktanol/víz megoszlás vizsgálatok és a kontakt nedvesedés között párhuzam vonható.

A farmakon nagy **megoszlási hányadosa (1810,80)** rossz vízdékonyságára, ezáltal *n*-oktanolban való jó oldódására utal; koncentrációja vízben 26,75 $\mu\text{g/ml}$, míg *n*-oktanolban 48439,07 $\mu\text{g/ml}$. A megoszlási hányados értékek alapján a turner rendszerek vízdékonysága a binerekhez képest jobbnak bizonyult. Kiemelkedő eredményt, azaz 25,51 az 1:3 US; 5,94 az 1:2 PM+PVP és 9,13 az 1:3 KP+PVP arányoknál kaptam. NIF vízdékonysága 15-szörösére fokozódott (26,75 $\mu\text{g/ml}$ -ről 422,03 $\mu\text{g/ml}$ -re).

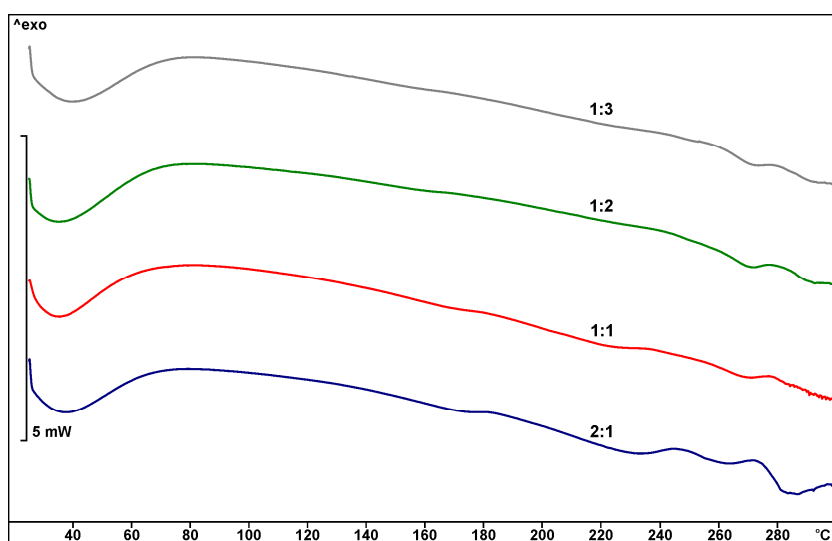
A hatóanyag savas karaktere révén **kioldódása** Bn-ben jobbnak bizonyult 120 perc elteltével (14,33 mg/100 ml), mint Gyn-ben (9.92 mg/100 ml). *Gyn*-ben KPs esetén a CD koncentráció növelésével javult a kioldódás, különösen az 1:3 arányban, ahol a hatóanyaghoz képest 4,4-szeres oldékonyság növekedést tapasztaltam. Hasonló tendenciát állapítottam meg KP+PVP rendszereknél. A HP- β -CD arány növelésével kismértékben javult a kioldódás PM, US és PM+PVP rendszerek esetében is. A kioldódás elhúzódott, a NIF mennyisége viszonylag egyenletesen szabadult fel.

Bn-ben a telítési koncentráció 10–15 perc után következett be. A legnagyobb oldékonyság növekedés (7-szeres) az 1:1, 1:2 és 1:3 terner KP-nél volt, még 3-szoros növekedést értem el az 1:1 PM+PVP összetételnél.

A **kinetikai paraméterek** is jól alátámasztották, hogy a termékkészítési eljárások befolyásolták a kioldódást, mivel az oldószeres gyúrás, illetve a PVP alkalmazása nagyobb oldódási sebességet eredményezett, NIF-hoz viszonyítva különösen Bn-ben.

A NIF K_d értéke $2.36 (10^{-3})$ cm/min, amely bizonyos termékek **diffúziója** esetén javult. KP+PVP összetételeknél K_d értékben csupán 0.98-szoros, az US mintáknál 2–3-szoros növekedést tapasztaltam. Binér termékek (PM and KP) esetén, a CD koncentráció csökkentése magasabb K_d értékhez vezetett.

A NIF **DSC** görbájén 203,81 °C-on éles endoterm csúcs található, ami a hatóanyag olvadáspontját mutatja. A binér CD-es termékeknel részleges komplexek keletkezése valószínűsíthető [CD koncentráció emelkedésével az olvadáspont-értékek csökkentek (190–180 °C)], illetve amorfizálást vagy teljes komplexek előállítását értem el a terner rendszereknél (NIF olvadáspontja nem detektálható a DSC görbén) - 2. ábra.



2. ábra Terner fizikai keverékek (PM+PVP) DSC görbéi

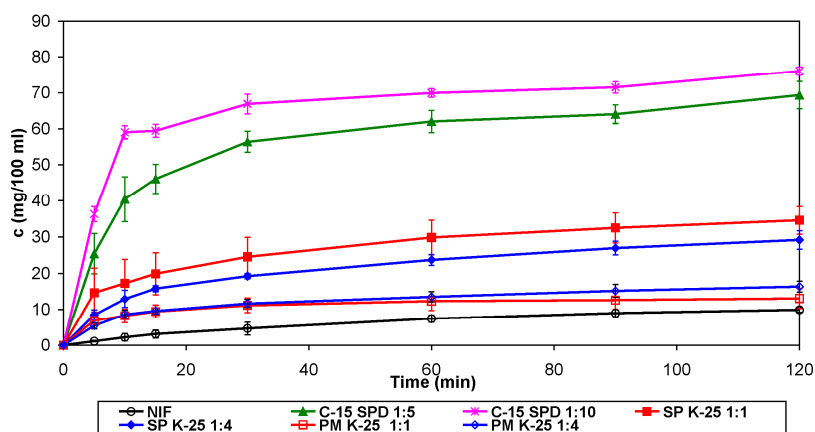
5.2. Szilárd diszperziók vizsgálatai

A porlasztva szárított részecskék (SPD) körülbelül 50 %-a esett a 10–20 μm -es **szemcseméret**-tartományba. A szignifikáns hosszúság, szélesség, kerület és terület csökkenés különösen jelentős volt az 1:5 SPD ($\sim 46 \mu\text{m}$ -ról $\sim 14 \mu\text{m}$ -re) összetételénél. A fajlagos felület-növekedés oldódási sebesség javulást eredményez.

A **telítési koncentráció** meghatározás alapján a NIF oldékonysága 11–15-szeresére fokozódott (26,75 $\mu\text{g/ml}$ -ről 413,33 $\mu\text{g/ml}$ -re) SPD termékeknél. PM esetén 2–3-szoros, míg SP-nél 8-szoros oldékonyság-növekedést tapasztaltam.

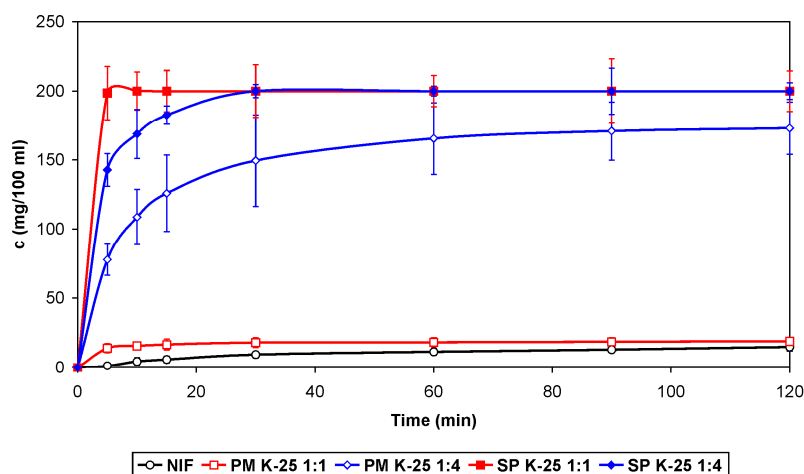
A minták **nedvesedési peremszög** értékei jelentősen csökkentek. PM vizsgálatokor a PVP arány növekedésével a termékek hidrofilitása javult (1:6 összetételénél a peremszög 1/3-ára csökkent a NIF-hoz képest). Kiemelkedő értékeket 1:1 SP (7,5°) és 1:5 SPD (26,3°) minták adtak.

Oldékonyság *Gyn*-ben az SP termékeknél 3,5-ször, az SPD mintáknál 8-szor magasabb volt NIF-hez viszonyítva (3. ábra).



3. ábra NIF és különböző típusú szilárd diszperziók kioldódása mesterséges gyomornedvben

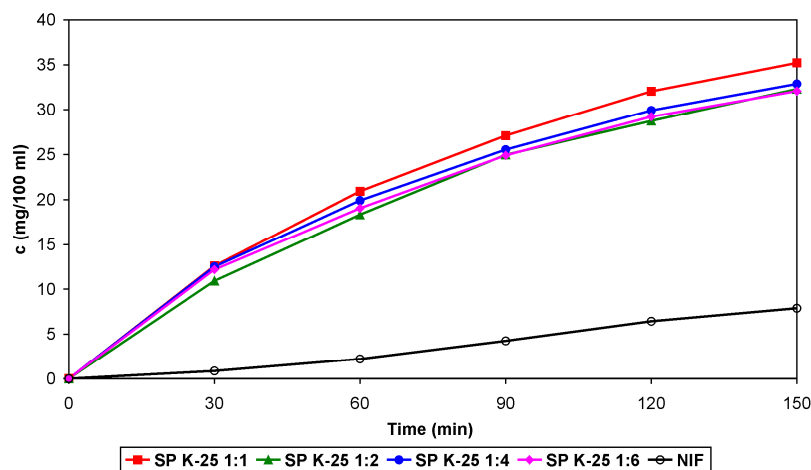
A szilárd diszperziók pillanatszerű kioldódást eredményeztek *Bn*-ben (4. ábra). A telítés elérése az 5–15 percben történt. A termékekből (SP, SPD) a hatóanyag 100%-a szabadult fel, míg a PVP K-25 alkalmazásával készült PM 1:4 és 1:6 arányokban 86 %-ot értem el.



4. ábra NIF és különböző típusú szilárd diszperziók kioldódása mesterséges bélnedvben

PM-nél a **kioldódás sebessége** az 1:4 és 1:6 PM K-25 összetételek esetén javult Bn-ben (15–21-szeresére). Oldószeres eljárásoknál Gyn-ben 2,3–5,26-szor és Bn-ben 26–51-szer gyorsabb a kioldódás. A PVP-s szilárd diszperziós technológia tehát jelentősen befolyásolta a hidrofilitást és diszperzibilitást a kioldó közegekben.

Különösen az SP termékek javították a hatóanyag permeabilitását. A **diffúzió vizsgálatot** Gyn-ben végeztem el.



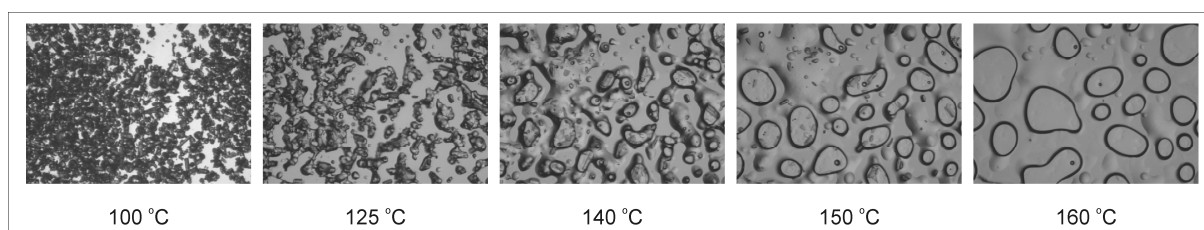
5. ábra NIF és vákuumszáritott minták diffúziója mesterséges gyomornedvben

PM és SPD vizsgálatánál 2-szeres, míg SP termékek esetén 4,5-szörös permeabilitás növekedést kaptam 150 perc elteltével (5. ábra).

A **DSC** görbéken nem detektáltam a hatóanyag olvadáspontját, ami a hatóanyag, PVP és oldószer molekulák szerkezeti kapcsolatára, amorfizálásra utal. A PM K-25 minták XRPD mintázatával ellentétben (NIF kristályos formában van jelen), a DSC felvétel a hatóanyag

olvadását nem jelzi, tehát hőmérséklet emelkedés hatására alakul ki a kapcsolat PVP és NIF között.

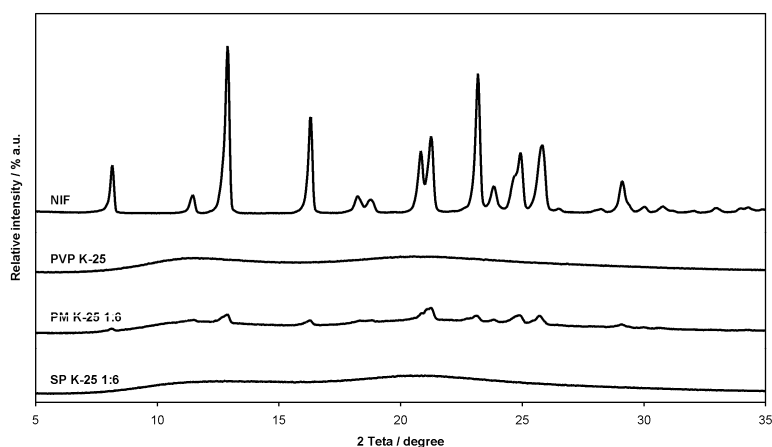
A **termomikroszkópos vizsgálatok** azt igazolták, hogy a farmakon feloldódik a megolvadt PVP-ben. Detektáltam a PM K-25 termékekben hőközlés hatására bekövetkező változást (6. ábra). A felvétel az 1:1 arányú összetétel 100–160 °C hőmérséklet-tartományban végbement morfológiai átalakulást mutatja. A PVP 110–130 °C-on olvadt, a NIF részecskék egyenletesen diszpergálódtak, majd ezt követően 50 °C-kal olvadáspontja alatt, 150–160 °C-on a hatóanyag teljesen feloldódott. A vizsgálat magyarázatot adott a DSC felvétel jelenségére.



6. ábra PM K-25 1:1 termomikroszkópos felvételei

Oldószer-eltávolítás következtében jelentős változások mutatkoztak az **FT-IR** spektrumokon. A hatóanyag spektrumához viszonyítva két éles sáv 1615 és 1428 cm^{-1} eltűnt, valamint egy új 1683 cm^{-1} -nél keletkezett. A termékkészítési eljárás amorfizálást eredményezett, amely magas energia-állapotot, egyensúlyi koncentrációt és oldékonyság növekedést idéz elő.

XRPD felvételek azt mutatták, hogy PM K-25 mintákban a hatóanyag kristályos állapotban volt jelen. Ezzel szemben az oldószeres eljárás mindkét módszere a PVP amorf szerkezetéhez hasonló XRPD mintázatot eredményezett, kristályos forma nem mutatkozott. A vizsgálat az amorfizálás tényét bizonyította (7. ábra).



7. ábra NIF, PVP K-25, PM K-25 1:6 és SP K-25 1:6 XRPD mintázata

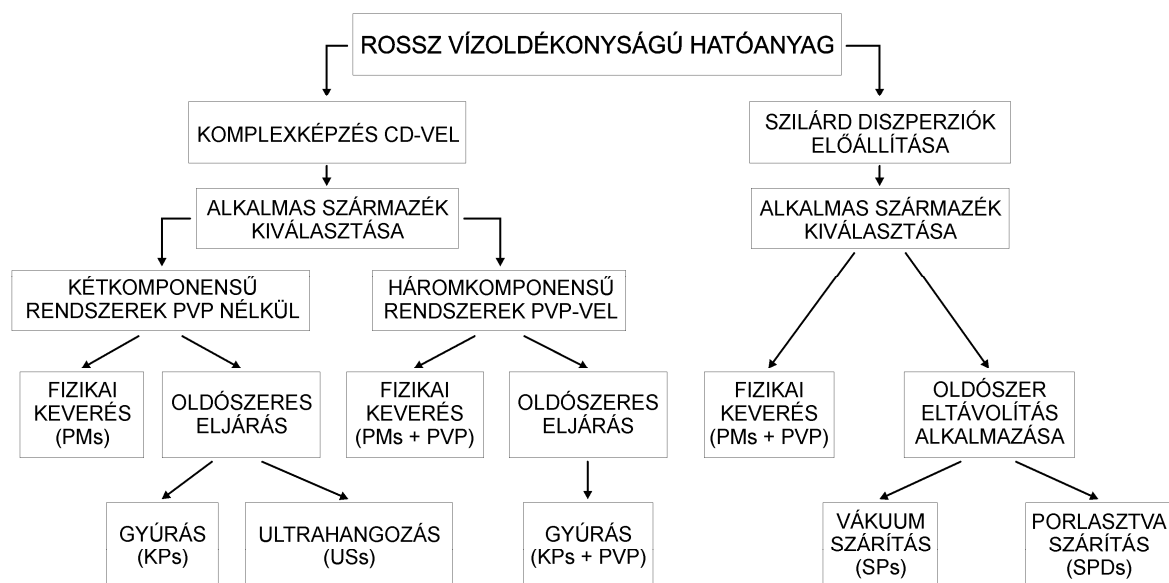
6. ÖSSZEFOGLALÁS

A NIF vízdékonysága kedvezőtlen. Ezért célul tűztem ki oldékonyságának és oldódási sebességének javítását. Munkám egy preformulációs tanulmányt foglal magába, amely a generikum formulálás technológia megoldásaira fókuszál.

A kísérletes munka összegzése a következő.

- 1) Meghatároztam a CD-származékok oldékonyság növelő hatását. A nifluminsav oldékonyságát a HP- β -CD növelte legnagyobb mértékben (2,5-szörös), amit munkám során a továbbiakban alkalmaztam.
- 2) Különböző molekula-arányokban (2:1, 1:1, 1:2 és 1:3) és három módszerrel (PM-fizikai keverékek, KP-gyúrt termékek és US-ultrahangozott minták) kétkomponensű termékek, valamint 15 m/m% PVP K-90 alkalmazásával háromkomponensű rendszerek (PM+PVP és KP+PVP) készültek.
- 3) Ezt követően vízdékonny polimerek, különböző típusú PVP-k használatával adott tömegarányokban (1:1, 1:2, 1:4, 1:5, 1:6 és 1:10), három készítési eljárással (PM-fizikai keverékek, SP-vákuumozott és SPD-porlasztva szárított termékek) szilárd diszperziókat állítottam elő.
- 4) A termékek hidofil jellegét nedvesedési vizsgálattal igazoltam. Minden termék esetében szignifikánsan csökkent a peremszög 71° -ról $26-30^\circ$ -ra. Az eredményekkel párhuzamba vonhatók a telítési koncentráció-értékek, ahol SPD mutatták a legmagasabb adatokat, a hatóanyaghoz képest ($26 \mu\text{g/ml}$) 16-szor nagyobb értéket kaptam $413 \mu\text{g/ml}$.
- 5) A szilárd diszperziók szemcseméret-analízise és morfológiai értékelése alapján átlagosan $13 \mu\text{m}$ -es szemcséket detektáltam a NIF $46 \mu\text{m}$ -es szemcséihez képest. Az oldószer eltávolítás módszerei közül tehát a porlasztva szárítás szemcseméret-csökkenéshez vezetett, ami fontos tényező a gyógyszerformulálásnál, valamint javítja a kioldódást és permeabilitást.
- 6) 38 előállított termék kioldódását végeztem el mesterséges gyomor- és bélnedvben. Bélnedvben a termékek átlagosan kedvezőbben oldódtak ki. Gyomornedvben a KP, KP+PVP, SP és SPD hasonló kioldódási profilt mutattak, ahol 4-szeres oldékonyságnövekedést detektáltam. Bélnedvben, a készítéstől függően 3,5 (KP), 7,5 (KP+PVP) és 14 (SP és SPD)-szeresére fokozódott a kioldódott hatóanyag-koncentráció.

- 7) A kioldódás sebessége az előállítási eljárások alapján változott. A PM és az US elhúzódó kioldódást mutattak. PVP alkalmazása szerves oldószerekkel (etanol, metanol, aceton) amorf termékeket eredményezett, amelyek kioldódása pillanatszerű. A telítési koncentrációt CD-es termékeknél 15–20 percnél, míg szilárd diszperziók esetén 5–10 percnél tapasztaltam. CD-es rendszerek oldódási sebessége 1,5–2,5-szörös, szilárd diszperziók 5–51 szerez a hatóanyaghoz viszonyítva.
- 8) A BCS besorolás szerint a NIF rossz oldékonyságú, de jó permeabilitású; ezt mutatja az *n*-oktanol/víz megoszlási hányados értéke is. A termékek permeabilitása és diffúziós sebessége gyomornedvben 2–4-szer jobb a NIF-hoz képest. Kiemelkedő permeabilitás javulást SD és SPD módszerek 1:1 arányban adtak.
- 9) A DSC görbék alapján kristályos NIF volt jelen a CD tartalmú mintákban. Ezzel szemben PVP alkalmazásakor a hatóanyag olvadáspontját nem detektáltam a mintákban. PVP-s fizikai keverékek termomikroszkópos felvételei igazolták, hogy a hatóanyag hőmérséklet-emelkedés következtében feloldódik a megolvadt PVP-ben. A teljes feloldódás 150–160 °C -on történt, 50 °C-al a hatóanyag olvadáspontja alatt, ez a magyarázata a PVP-s fizikai keverékeknél annak, hogy olvadáspont eltűnt.
- 10) CD-es rendszerek FT-IR-es szerkezet-vizsgálata alapján megállapítottam, hogy teljes komplexek nem alakultak ki. Szilárd diszperziók esetén a hatóanyag spektrumához viszonyítva két éles sáv 1615 és 1428 cm⁻¹ eltűnt, viszont egy új 1683 cm⁻¹ keletkezett.
- 11) Az XRPD spektrum éles csúcsai a kristályos hatóanyagot jellemzi. Szilárd diszperziók esetén a PVP amorf mintázatához hasonló, kristályos jelleg nélküli görbéket kaptam. A termékek előállításakor a NIF amorfizálása történt, nincs termodinamikai gátja az oldódásnak, a szilárd fázis magasabb energiaállapotba kerülve, nagyobb egyensúlyi koncentrációt mutat, oldékonysága javul.



8. ábra Az értekezés technológiai protokollja

Összefoglalva megállapítom, hogy a vizsgált hatóanyag esetében az oldékonyság és oldódási sebesség javítása céljából előnyösebb szilárd diszperziók előállítása, mint a CD-es komplexek képzése. A CD-es kettős és hármas rendszereknél formulálás szempontjából az 1:3 összetételeket javaslom félszilárd készítmények vizsgálatára, mivel permeabilitásuk és nedvesedési sajátságaik jelentősen javultak. Szilárd diszperziók közül a porlasztva-száritott termékek 1:5 összetételét szilárd gyógyszerforma fejlesztésére választom ki. Ez esetben ugyanis pillanatszerű kioldódást tapasztaltam és a hatóanyag permeabilitása is előnyösen növekedett. A széleskörű preformulációs vizsgálatot követően alkalmas összetételeken biofarmáciai mérések elvégzését tervezem, vérszint-koncentráció, gyomor toxicitás-meghatározás és ödéma-csökkentő hatás vizsgálatok kivitelezése. A 8. ábra szemlélteti az értekezés technológiai folyamatábráját nifluminsav esetében. Az értekezés irányvonalat ad többek között a generikum formulálás lehetőségeiről rossz vízdékonyságú vegyületek esetén. A gazdasági és terápiás szempontból hasznosítható műveletek révén mód van az alkalmazott dózis csökkentésére és a mellékhatások mérséklésére.

Az értekezés alapját képező közlemények és előadáskivonatok

Közlemények

- I. M. Kata, **R. Ambrus** and Z. Aigner: *Preparation and investigation of inclusion complexes containing niflumonic acid and cyclodextrins*. J. Incl. Phenom. **44**, 123–126 (2002) (IF 2005: 1,020)
- II. **Ambrus R.**, Kata M., Erős I. és Aigner Z.: *Nifluminsav oldékonysági tulajdonságainak növelése ciklodextrin és polividon felhasználásával*. Acta Pharm. Hung. **75**, 31–36 (2005)
- III. **Ambrus R.**, Kata M., Erős I. és Aigner Z.: *Vizoldékony polimer befolyása ciklodextrines zárványkomplex-képződésre*. Orvostudományi Értesítő **78** (2), 200–205 (2005)
- IV. **Ambrus R.**, Aigner Z., Simándi B. és Szabóné Révész P.: *A szuperkritikus technológia elméleti alapjai és gyakorlati alkalmazása*. Gyógyszerészet **50** (5), 287–291 (2006)
- V. **R. Ambrus**, Z. Aigner, O. Berkesi, C. Soica and P. Szabó-Révész: *Determination of structural interaction of niflumonic acid-PVP solid dispersions*. Rev. Chim. **57** (10), 1051–1054 (2006) (IF 2005: 0,278)
- VI. **R. Ambrus**, Z. Aigner, C. Dehelean and P. Szabó-Révész: *Physicochemical studies on solid dispersions of niflumonic acid prepared with PVP*. Rev. Chim. **57** (11), 2007 (accepted, in press) (IF 2005: 0,278)
- VII. **R. Ambrus**, Z. Aigner, O. Berkesi and P. Szabó-Révész: *Amorphisation of niflumonic acid with polyvinylpyrrolidone prepared solid dispersion to reach rapid drug release*. Rev. Chim. 2007 (accepted, in press) (IF 2005: 0,278)

Előadáskivonatok

- I. M. Kata, **R. Ambrus** and Z. Aigner: *Preparation and investigation of inclusion complexes containing niflumonic acid and cyclodextrins*. 11th International Cyclodextrin Symposium, Reykjavik, Iceland, May 5–8. 2002. Poster/Abstract, II–P–10, p. 34.
- II. Aigner Z., F. Taneri, **Ambrus R.**, Kézsmárki Á., Erős I. és Kata M.: *Termoanalitikai módszerek alkalmazása ciklodextrines komplexek vizsgálatában*. XIV. Országos Gyógyszertechnológiai Konferencia, Hévíz, 2002. november 8–10. Poster, P–1.
- III. **Ambrus R.**: *Nifluminsav oldékonyságnövelése ciklodextrin felhasználásával*. Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged, 2003. február 13–15. Abstract, 03, p. 23. Verbal

- IV. **Ambrus R.:** *Nifluminsav oldékonyságnövelése ciklodextrin felhasználásával.*
X. Tudományos Diákköri Konferencia, Marosvásárhely, Románia, 2003. április 3–6.
Abstract, **02**, p. 43. Verbal

- V. **R. Ambrus**, M. Kata, I. Erős, and Z. Aigner: *Investigation of solubility properties of niflumenic acid containing cyclodextrins and polyvidone.* 12th International Cyclodextrin Symposium, Montpellier, France, May 16–18. 2004.
Abstract P-180, p. 76.

- VI. **Ambrus R.:** *Nifluminsav oldékonysági tulajdonságainak növelése ciklodextrin és polividon felhasználásával.* Gyógyszerkémiiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium, Eger, 2004. szeptember 20–21. Verbal

- VII. **Ambrus R.**, Kata M. és Aigner Z.: *Vizoldékony polimer befolyása ciklodextrines zárványkomplex-képződésre.* Erdélyi Múzeum-Egyesület Orvos- és Gyógyszerész tudományi Szakosztály, XV. Tudományos Ülésszak, Marosvásárhely, Románia, 2005. április 14–16. Verbal

- VIII. **Ambrus R.:** *A gyógyszerészet sokszínűsége, a gyógyszerek szerepe társadalmunkban.* Református Középiskolák VII. Országos Kémiai Versenye, Kémia tanári továbbképzés Kiskunhalas, 2005. április 22–23. Verbal

- IX. **R. Ambrus**, I. Erős, P. Szabó-Révész and Z. Aigner: *Physicochemical investigation of the effect of water-soluble polymers on niflumenic acid.* 6th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Biotechnology, Siófok, May 25–27. 2005. Abstract in Eur. J. Pharm. Sci., 25 Suppl. 1, S1-S226 (2005) P–1.
(**IF 2005: 2,347**)

- X. **R. Ambrus**, P. Szabó-Révész and Z. Aigner: *Preparation and characterization of niflumenic acid-PVP solid dispersion.* The 2005 Annual Conference of the British Association for Crystal Growth. Sheffield, England, September 4–6. 2005.
Poster/Abstract, B–5

- XI. **R. Ambrus:** *Physicochemical characterization and dissolution of niflumic acid/cyclodextrin inclusion complexes and PVP-solid dispersions.* University of Parma, Italy, May 2. 2006. Verbal

- XII. **R. Ambrus:** *Nifluminsav oldódási sebességének növelése gyors hatóanyag-felszabadulású készítmények formulálása céljából.* Magyar Tudomány Napja, Akikre büszkék vagyunk ... Szeged, 2006. november 9. Verbal

A témát támogatta az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (OTKA- T046908 és OTKA-T047166, valamint SOCRATES/ERASMUS Program 290/2005E és Thempus alapítvány.